

# 技術的問題と生命倫理からゲノム編集を考える

2018年12月2日

河田昌東（遺伝子組み換え情報室）

近年、ゲノム編集の技術は激しい勢いで発展し、世界的には論文数も年間4千件を超す勢いである。従来の遺伝子組み換えは外来遺伝子の挿入場所がランダムで、かつ効率が悪かったのに対し、ゲノムの特定配列を標的に破壊（ノックアウト）したり、新たな遺伝子を挿入（ノックイン）したり出来るようになったからである。この技術を使い、農業分野や医療分野での様々な遺伝子操作が進み、新たな産業革命にもつながると期待されている。しかし新たなゲノム編集技術の成果が強調されるあまり、この技術に伴う未解決の問題をおろそかにしてはならない。ゲノム編集は生命の根源である遺伝子を操作するのであり、地球上での誕生から進化という長い時間を経て形成されたゲノムを操作することは、一時的な遺伝病治療や食糧生産の効率化にとどまらず、生態系や命の未来をも左右する可能性がある事を忘れてはならない。ここでは主に現在のゲノム編集技術に伴う様々な課題を洗い出し今後の更なる発展の糧にしたい。

## (1) 標的遺伝子以外の遺伝子を破壊するオフターゲット効果

### (1-1) DNA分解酵素による標的遺伝子の認識エラーによるオフターゲット

ゲノム編集の手段であるDNA分解酵素のZFNとTALENは特定の塩基配列を認識する人工蛋白質で、標的遺伝子を変える度に新たに蛋白質を作りかえる必要がありコストと手間がかかるが、KRISPR/Cas9は細菌の持つDNA分解酵素(Cas9)に標的遺伝子と結合するガイドRNA(以下gRNA)を結合させたもので、標的遺伝子を変えてもgRNAの塩基配列を作り直せば良いので技術的に容易で時間もかからない為、現在はこの酵素が多く使われている。これらの人工DNA分解酵素に共通の問題点は「オフターゲット効果」である。標的DNAの認識塩基配列が20塩基程度であり膨大なゲノムの中には類似の塩基配列の遺伝子が存在するため標的外の遺伝子をも破壊する、これがオフターゲットである。頻繁に使われるようになったCas9の場合、標的配列約20塩基の中2~3個程度の違いのあるDNAは認識し分解するためオフターゲット効果は避けられない。

### (1-2) ゲノム編集効率を上げるためのベクター濃度増加によるオフターゲット

標的遺伝子一個の改変に際し、DNA分解酵素の遺伝子を組み込んだ一個のベクター(後述)を細胞に入れただけでは編集効率が悪い。実際のゲノム編集では、一個の標的遺伝子に対して、数十倍、数百倍のベクターを細胞内に投入する。その結果、塩基配列が似ている標的外遺伝子にも改変をもたらす恐れがある。これもオフターゲットの原因である。

### (1-3) 一個の遺伝子が複数の蛋白質の構造を決めていることによるオフターゲット

真核生物の遺伝子は蛋白質の構造を決めるエクソンと構造に反映されないイントロンから出来ている。DNAから直接合成されるpre-mRNAはエクソンとイントロンが交互に連結されており、これをスプライシングという反応でイントロンを排除し、エクソン同士をつなげたのがmRNAで、この塩基配列が直接蛋白質のアミノ酸配列に反映される。スプライシングは全てのエクソンをつなげるわけではなくエクソンをいくつか選んで連結しmRNAを作る。その結果、一個の遺伝子から複数の蛋白質が合成される。ゲノム編集の際に共通のエクソンを改変すれば、結果的に複数の蛋白質が改変される。

## (2) Cas9 酵素自身の問題

### (2-1) Cas9 酵素に対する細胞の免疫反応

細胞内の蛋白質が通常 200~300 個のアミノ酸からなるのに対し、Cas9 酵素はアミノ酸が 1000~2000 個からなる巨大な蛋白質である。その結果、免疫細胞が認識する外来蛋白質のアミノ酸配列（エピトープ）が存在する可能性が高い。実際、アメリカのスタンフォード大学の研究者らの研究では、黄色ブドウ状球菌の Cas9 酵素に対し 79% のヒト血清から免疫反応を起こす抗体蛋白質が検出され、A 型溶血性連鎖球菌の Cas9 に対しては 65% のヒト血清から抗体が検出された。このことはゲノム編集の際に Cas9 酵素に対し自己免疫反応によるアレルギーの危険があることを示唆する。

### (2-2) Cas9 と発がんの危険性

Cas9 によるゲノム編集を細胞内の発がん抑制遺伝子 p 53 が妨害している事が分かった。p 53 遺伝子を破壊すれば Cas9 によるゲノム編集効率があがるという。このことは Cas9 酵素によって遺伝病などのゲノム編集治療を行った場合に将来、発がんの危険性が高まることを意味する。

### (2-3) Cas9 による標的細胞遺伝子の大規模な破壊と改変

最近、イギリスの研究者らによりマウス胚の Cas9 によるゲノム編集の際に、標的遺伝子周辺で大規模な DNA（数千塩基対に及ぶ）の欠損と DNA の複雑な再配列が起こっている事実が報告された。これは Cas9 による標的遺伝子 DNA の 2 本鎖切断の後で起こる DNA 修復反応の際の副反応で、オンターゲット効果と呼ばれている。これにより、胚のゲノム編集を行った場合、将来深刻な遺伝病になる危険性が指摘されている。

## (3) ゲノム編集遺伝子を運ぶベクターの問題

標的細胞にゲノム編集酵素を入れるにはベクターが必要である。ベクターは自己増殖遺伝子を破壊し、その代わりにゲノム編集酵素の遺伝子を挿入したウイルスやプラスミドの総称で細胞にゲノム編集遺伝子を挿入する際の遺伝子の運び屋である。ベクターには様々なウイルス由来のものが使われるが、大別すれば、標的細胞の染色体遺伝子に組み込まれその一部となる、レンチウイルスやレトロウイルス・ベクターと、染色体には組み込まれないアデノウイルス・ベクターやプラスミド・ベクターなどがある。その他、AAV（アデノ随伴ウイルス）がある。これは病原性がないウイルスで 100 種類以上発見され、ゲノム編集に好都合なことから最近良く使われるようになったベクターである。

問題はこれらベクターが染色体 DNA に組み込まれたり、長期間細胞内に留まった場合に、ゲノム編集酵素や選択マーカ蛋白質（後述）を長期間作り続けることで、前述（2-1）のアレルギーや発癌のリスクが高まる事である。通常の細胞の遺伝子は成長段階や環境変化に応じて遺伝子の発現を調節する能力を持つプロモーターを持っているが、ゲノム編集のベクターに組み込まれた遺伝子のプロモーター（例えば CaMV：カリフラワー・モザイク・ウイルス・プロモーター）はそうした調節能力がなく常時ゲノム編集酵素やマーカ蛋白質を作り続ける。その結果、宿主細胞の遺伝子に様々な悪影響をもたらす恐れがある。例えば、遺伝子治療にこれまで使われてきたアデノウイルスやレトロウイルスには細胞毒性がありアデノウイルス・ベクターは免疫反応による死亡例、レトロウイルス・ベクターには白血病発症の事故例が報告されている。先に述べた Cas9 酵素に対する免疫反応もこれに該当する。

ゲノム編集は従来の遺伝子組換えとは違い、自然突然変異に近い、という議論があるが、これは間違いである。自然突然変異では、ベクターの挿入や選択マーカ蛋白質（後述）の挿入はあり得ない。

#### (4) 選択マーカーの問題

ゲノム編集の実験では殆どの場合、ベクターにゲノム編集酵素とガイド RNA を作る DNA の他に、選択マーカーと呼ばれる遺伝子が組み込まれている。これはゲノム編集自体に必要なものではなく、ゲノム編集が上手く行ったかどうかの確認や、ゲノム編集が出来た細胞と出来なかった細胞を区別するための手段として使われる蛋白質である。よく使われているのは暗闇で光る発光クラゲの蛋白質を作る遺伝子 (GFP) とストレプトマイシンなど抗生物質耐性蛋白質を作る遺伝子である。

##### (4-1) GFP の問題

GFP は本来陸上の動植物には含まれない蛋白質で、細胞内で蛍光を発する際に酸素を大量に使い、副産物として活性酸素を作る。活性酸素は細胞内の蛋白質や遺伝子を損傷させ発がんの原因になると言われており、この遺伝子がプロモーターで常時発現すれば、ゲノム編集した生物個体が暗闇で蛍光を発する。実際にこれまでの実験を見れば、殆どの場合ゲノム編集の可否を判断するために細胞の発光を目印にしている。その他、GFP はマウスの実験で筋委縮病を起したりヒト細胞では免疫細胞の不活性化を生じたという研究もある。ミツバチの幼虫を使った実験では、GFP によって 446 個の遺伝子が通常より活性が高くなり 1015 個の遺伝子は通常より活性が低下した、など多くの宿主細胞の遺伝子に複雑な副反応を起こすことが報告されている。

##### (4-2) 抗生物質耐性マーカーの問題

GFP と同様に広く使われているマーカー遺伝子は、ストレプトマイシンやカナマイシン等の抗生物質耐性遺伝子である。これは、培養細胞の培地に高濃度の抗生物質を入れて培養しゲノム編集が出来た細胞は生き残るが、出来なかった細胞は死滅する、という選択の為の遺伝子であり GFP と同様ゲノム編集自体には不必要なものである。

抗生物質耐性遺伝子の利用はゲノム編集が初めてではない。従来の遺伝子組換え作物などの作製の際に、害虫抵抗性遺伝子 (Bt) を導入したトウモロコシには必ず入っている。これは生き残った細胞が抗生物質耐性であれば Bt 遺伝子も同時に組み込まれている、という選択の手段である。

しかしこれには大きな問題がある。抗生物質耐性トウモロコシを食べた家畜の腸内細菌がその遺伝子を DNA に取り込み耐性菌になるからである。これは遺伝子の水平伝達として古くから知られた現象である。イギリスでは除草剤耐性大豆を食べさせた人体実験で、その糞便から除草剤耐性菌が検出された例もある。家畜の餌に抗生物質耐性遺伝子が入っていることから日本やアメリカの家畜の肉が抗生物質耐性菌で汚染されていることは、アメリカの CDC (疾病予防センター) も認めている。その結果アメリカでは病院の外来患者の 25% は腸内細菌が抗生物質耐性であり病気になっても抗生剤が効かない、といった事態が起こっている。

国内でも家畜 (豚) や魚 (鯛)、食用作物 (トマト等) のゲノム編集では実際に抗生物質耐性マーカーが使われており、このまま実用化が進めば大きな問題になる。現在マーカー遺伝子を使わないゲノム編集は行われていない。

#### (5) 生命倫理の問題

ゲノム編集の特徴は、一度ゲノムを変換すればその遺伝子は後代まで引き継がれ、後戻りできないことである。こうした特徴は自然生態系の保護やヒト受精卵や生殖細胞系列のゲノム編集では深刻な問題を生じる。マラリア蚊の雄のゲノム編集をして繁殖能力を失くし環境に放出すれば、いずれマラリア蚊は絶滅する。そのモデル実験は既に行われている。しかしこれを実用化すべきか否かは簡単な問題ではない。

マラリア蚊は人間にとっては有害だが、自然生態系の中でどのような位置を占めているかが分からない限り実施すれば食物連鎖などを通じて取返しのつかない生態系破壊も覚悟しなければならない。

現在、激しい競争が行われているのは医療分野と農業分野のゲノム編集である。これを第4次産業革命ととらえて政府や財界も期待しているようだ。

特に医療分野に限れば遺伝病など難病治療に対する期待は大きい。最近ゲノム編集によってラットの心臓を持つマウスを造ったり、豚の受精卵のゲノム編集で心臓や膵臓などを作る遺伝子を壊し、これに人間の多機能幹細胞の核を移植して人間の臓器を持つ豚など、いわゆるキメラ生物を作るゲノム編集実験が行われた。また豚の持つがん遺伝子で、人には癌を生じるが豚には癌を発症しない遺伝子をゲノム編集で壊し、その心臓を人間に移植可能か、という実験も行われた。こうした実験の目的とするところは人間の臓器移植である。現在、臓器移植は臓器提供者が減り危機に瀕している。この打開のために、としてこうした研究は行われている。かつて臓器移植に関しては臓器提供者の脳死判定を巡り激しい論議が交わされたが問題が解決されたわけではない。こうした状況がゲノム編集による移植臓器の作製である。

将来は人間の心臓を豚で培養したり、豚の心臓を人間に移植するという時代も来るかもしれない。こうした生命操作を我々の社会は受け入れるべきかどうか、という判断を迫られるだろう。

最近、中国で HIV に感染しないようにゲノム編集した受精卵から双子の赤ちゃんが生まれた、というニュースがマスコミを騒がせた。これは所謂デザイナー・ベビーの走りであり現在は世界各国でも認めていない遺伝子治療である。しかし実験レベルでは筋ジストロフィー治療や、人胚の肥大心筋症のゲノム編集や人胚のβサラセミア突然変異治療など、こうしたゲノム編集実験は既に数多く実施されており、多くの研究者はその実用化を目指している。しかし、技術編で述べたようにゲノム編集技術はまだ多くの未解決の問題やリスクを抱えている。先に述べた HIV にかかりにくくなった赤ちゃんはゲノム編集に Cas9 を使っており、将来癌を発症する可能性がある。しかし、この遺伝子改変は本人の意思とは無関係であり大きな人権侵害にもなる。こうした問題については今、世界中で「生命倫理」の問題として議論が始まっている。EU やアメリカでは将来、遺伝病治療のために有効な手段になる可能性がある、として人間の体細胞のゲノム編集の実験は大筋で認める、という意見が大勢である。一方、卵細胞や授精卵や胚のゲノム編集には厳しい規制が付けられている。卵細胞の実験は人工授精の為に採取した際の余分な細胞に限ること、実験に使う受精卵や胚の場合は受精後 14 日以内であること、ゲノム編集後の受精卵や胚は母体内に戻さない事、遺伝病のゲノム編集は認めるが、体力増強などいわゆるデザイナー・ベビーに通じる実験は認めない、等が規制の趨勢である。しかし、こうした規制はその時々々の社会の状況に応じて受け入れるか否かが変わる危うさがあり、生命倫理の観点から普遍的な拘束力を持つものではない。

一方、遺伝病治療に対しても批判がある。現在、出生前診断で子どもを産むかどうか母親が決断を迫られ苦しんでいる。出生前診断も 100%正しいわけではない。ゲノム編集が可能になればその決断は一層厳しいものになるかもしれない。またゲノム編集技術はほとんど全てが特許の対象であり、治療が可能になったとしても高額な治療にならざるを得ない。その結果は経済的な格差が一層健康上の大きな格差につながるだろう。

こうした様々な倫理上の問題をゲノム編集は抱えている。これを誰がどのように決めるかが問題である。Cas9 酵素を開発したチームの一人、カリフォルニア大学のジェニファー・ダウドナ教授は「原子力とゲノム編集には開発に関わった科学者の、この世界の仕組みを理解したい、という根源的な知識への欲求が共通している。ゲノム編集も生物兵器に使われる可能性があり、原子力と同様、一度この技術を手にした時、恩恵ばかりか危険を伴う事が直ちに分かった。科学者自身がこの危険性にどのように向き合うか、自から問いかけると同時に科学者だけでなく一般市民との開かれた議論を通じて社会的な倫理と規制につなげるべき」と述べている。